

VALIDASI JUMLAH SIKLUS AMPLIFIKASI *YFILER* PADA MANUSIA

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

DINAR LARASATI

M0410019

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SEBELAS MARET

SURAKARTA

2017

PENGESAHAN

SKRIPSI

VALIDASI JUMLAH SIKLUS AMPLIFIKASI *YFILER* PADA MANUSIA

Oleh:

Dinar Larasati

NIM. M0410019

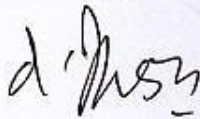
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada tanggal **31 JUL 2017**

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, Agustus 2017

Penguji I



Dra. Noor Soesanti Handajani, M.Si.
NIP. 19540326 198103 2 001

Penguji II



Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech.
NIP. 19760812 200501 2 001

Penguji III/Pembimbing I



Prof. Dr. Okid Parama Astirin, MS.
NIP. 19630327 198601 2 002

Penguji IV/Pembimbing II



Drs. Putut T. Widodo, DFM, MSi.
KOMBES POL NRP. 62081089

Mengetahui,
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si
NIP. 19660714 199903 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau kembali dan/atau dicabut.

Surakarta, 31 Juli 2017



Dinar Larasati

NIM. M0410019

VALIDASI JUMLAH SIKLUS AMPLIFIKASI *YFILER* PADA MANUSIA

DINAR LARASATI

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

ABSTRAK

Di dalam laboratorium forensik, pengungkapan suatu kasus tindak kriminal dapat dilakukan melalui identifikasi DNA manusia. Salah satu cara identifikasi DNA manusia dapat dilakukan melalui analisis kromosom Y. *Yfiler* adalah sebuah kit komersial yang dapat digunakan dalam analisis kromosom Y. Namun, penggunaan *Yfiler* terbilang baru di Indonesia, khususnya di Laboratorium DNA Pusdokes Polri, Jakarta. Oleh karena itu, *Yfiler* perlu divalidasi untuk membuktikan ketepatangunaan dan akurasi fungsi dari kit tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah siklus amplifikasi *Yfiler* tervalid, serta mengetahui hubungan antara jumlah siklus dengan rata-rata tinggi *peak* dan persamaan regresi yang terbentuk.

Dalam penelitian ini, validasi dilakukan dengan cara memodifikasi jumlah siklus amplifikasi. Jumlah siklus amplifikasi yang digunakan adalah 27, 28, 29, 30, 31, dan 32 siklus. Data dianalisis dengan menggunakan aplikasi *Gene Mapper*[®] ID Software v 3.2, serta diuji homogenitas dan signifikansi menggunakan ANOVA dengan probabilitas 5% ($\alpha=0,05$). Penentuan model kurva standar dilakukan menggunakan SPSS *Statistic* v. 20. Jumlah siklus tervalid ditentukan dengan memilih rata-rata tinggi *peak* dari masing-masing jumlah siklus, yang mendekati nilai median rata-rata tinggi *peak* standar (100 – 10.000 RFU). Kemudian, hasil yang diperoleh dibandingkan dengan hasil validasi yang dilakukan petunjuk manual *AmpFlSTR*[®] *Yfiler*[®] PCR Amplification Kit.

Jumlah siklus amplifikasi tervalid yang diperoleh dari penelitian ini adalah pada jumlah siklus 31. Hubungan antara jumlah siklus amplifikasi dengan rata-rata tinggi *peak* mengikuti bentuk kurva S, yaitu setiap penambahan jumlah siklus amplifikasi akan diikuti dengan penambahan tinggi *peak*, dengan persamaan regresi: $\ln y = 19,636 - (13,575/x)$.

Kata kunci: validasi, *Yfiler*, kromosom Y, amplifikasi, jumlah siklus, kurva S

VALIDATION OF THE NUMBER OF YFILER AMPLIFICATION CYCLES IN HUMAN

DINAR LARASATI

Departement of Biology, Faculty of Mathematic and Natural Sciences,
Sebelas Maret University, Surakarta

ABSTRACT

In a forensic laboratory, disclosure of a criminal case can be done by human DNA identification. Identifying human DNA can be done through Y chromosome analysis. Yfiler is a commercial kit that can be used in Y chromosome analysis. However, the use of Yfiler is relatively new in Indonesia, especially in the DNA Laboratory of Pusdokkes Polri, Jakarta. Therefore, Yfiler needs to be validated to prove the usefulness and functionality of the kit. The purposes of this study are to determine the most valid number of Yfiler amplification cycles, and relationship between the number of cycles with peak height average and the regression equation formed.

In this research, validation is done by modifying the number of amplification cycles. The number of amplification cycles used were 27, 28, 29, 30, 31, and 32 cycles. Data were analyzed using Gene Mapper[®] ID Software v 3.2 application. Homogeneity and significance test using ANOVA with probability 5% ($\alpha=0,05$). Standard curve model is determined by using SPSS Statistic v. 20. The most valid number of cycles is determined by selecting an peak height average of each cycle number, which is close to the median value of the peak standard height average (100 – 10.000 RFUs). Then, the results are compared with the validation of the AmpFISTR[®] Yfiler[®] PCR Amplification Kit manual instructions.

The most valid number of amplification cycles obtained from this study is on the number of cycles 31. The relationship between the number of amplification cycles with the peak height average follows the curve shape S, that is each additional number of amplification cycles will be followed by the addition of peak height, with regression equation: $\ln y = 19,636 - (13,575/x)$.

Key words: validation, Yfiler, Y chromosome, amplification, number of cycle, S curve

MOTTO

“Kegagalan hanya terjadi bila kita menyerah”

*“Ketahuilah bahwa bersama kesabaran ada kemenangan,
bersama kesusahan ada jalan keluar,
dan bersama kesulitan ada kemudahan.”*
(H. R. Tirmidzi)

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

- 1. Allah SWT karena atas izin dan karunia-Nya-lah maka skripsi ini dapat selesai.*
- 2. Mamah, papah, dan kakak tercinta, yang senantiasa memberikan dukungan, kasih sayang, dan do'anya.*
- 3. Laboratorium DNA Pusdokkes Polri, Jakarta.*
- 4. Teman-teman SBB 2010.*
- 5. Almamater tercinta Universitas Sebelas Maret.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul **“Validasi Jumlah Siklus Amplifikasi *Yfiler* Pada Manusia”** dengan baik sebagai salah satu persyaratan memperoleh derajat Strata Satu (S1) Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan skripsi ini penulis telah mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak yang sangat berguna dan bermanfaat baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu pada kesempatan yang baik ini dengan berbesar hati penulis ingin mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya dan sebesar-besarnya kepada:

Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc. (Hons), Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta yang begitu inspiratif memotivasi mahasiswa serta atas ijin penelitian yang telah diberikan kepada penulis untuk keperluan skripsi.

Ibu Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. selaku ketua jurusan Biologi FMIPA UNS atas ijin skripsi dan saran-saran yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.

Ibu Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S. selaku Pembimbing I yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, saran, dan dukungan sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Bapak Drs. Putut T. Widodo, DFM, M.Si. selaku Pembimbing II yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium DNA Pusdokkes Polri, Jakarta, serta telah banyak memberikan pengarahan, bimbingan, saran, dan motivasi kepada penulis sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Ibu Dra. Noor Soesanti Handajani, M.Si. selaku Penelaah I yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk yang membangun sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Ibu Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech. selaku Penelaah II yang telah memberikan bimbingan dan petunjuknya sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Dosen-dosen di Program Studi Biologi, yang telah sabar memberikan pengarahan dan dorongan baik spiritual maupun materil.

Seluruh staff Laboratorium DNA Puskas Polri, Jakarta yang telah banyak membantu dan memberikan saran serta masukkandalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.

Keluarga Biologi 2010 yang telah banyak memberikan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini.

Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuannya.

Dengan kerendahan hati penulis menyadari bahwa dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu masukan yang berupa saran dan kritik yang membangun dari para pembaca akan sangat membantu. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kita semua dan pihak-pihak yang terkait.

Surakarta, Juli 2017

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACK.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. LANDASAN TEORI.....	6
A. Tinjauan Pustaka.....	6
1. Validasi.....	6
2. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	7
a. <i>Denaturation</i>	8
b. <i>Annealing</i>	8
c. <i>Extension</i>	9
3. Kromosom Y Manusia.....	9
a. <i>Y-Short Tandem Repeat (Y-STR)</i>	11
4. <i>Yfiler</i>	13
B. Kerangka Pemikiran.....	14
C. Hipotesis.....	15

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
B. Alat dan Bahan.....	16
1. Alat.....	16
2. Bahan.....	17
C. Cara Kerja.....	17
1. Pengambilan Sampel.....	17
2. Ekstraksi.....	18
3. Kuantifikasi DNA.....	21
4. Amplifikasi <i>Yfiler</i>	23
5. Perbandingan Jumlah Siklus Amplifikasi.....	26
6. Elektroforesis.....	28
7. <i>Genotyping</i>	28
D. Analisis Data.....	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
A. Profil lengkap Y-STR.....	31
B. <i>Off-Ladder</i> alel.....	37
C. Uji homogenitas.....	38
D. Uji signifikansi.....	39
E. Analisis model kurva untuk mendapatkan persamaan regresi.....	39
F. Penentuan jumlah siklus tervalid.....	42
BAB V. PENUTUP.....	45
A. KESIMPULAN.....	45
B. SARAN.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
GLOSARIUM.....	51
LAMPIRAN.....	55
RIWAYAT HIDUP PENULIS.....	90

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Konfigurasi <i>GeneAmp</i> [®] PCR System 9700 <i>Cycler</i> pada program 9600 <i>Emulation Mode</i>	25
Tabel 2. Data konsentrasi DNA dan tinggi <i>peak</i>	33
Tabel 3. Data perbandingan model kurva	40
Tabel 4. Data perbandingan rata-rata tinggi <i>peak</i>	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur kromosom Y	10
Gambar 2. Letak 17 lokus Y-STR yang biasa digunakan dalam analisis kromosom Y	13
Gambar 3. Diagram alir kerangka pemikiran	15
Gambar 4. Diagram alir cara kerja	30
Gambar 5. Kurva standar <i>Quantifiler</i> [®] <i>Human DNA Kit</i>	35
Gambar 6. Grafik perbandingan jumlah siklus dengan jumlah tinggi <i>peak</i>	37
Gambar 7. <i>Off-Ladder</i> alel dari pengujian jumlah siklus 32 pada sampel 1a ..	38
Gambar 8. Kurva S hubungan antara jumlah siklus (X) dengan rata-rata tinggi <i>peak</i> (Y)	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto pengambilan sampel.....	55
Lampiran 2. Foto sampel sel epitel mukosa mulut yang telah dipindahkan	56
Lampiran 3. Uji homogenitas dengan ANOVA pada masing-masing jumlah siklus.....	57
Lampiran 4. Uji signifikansi dengan ANOVA antar tiap siklus.....	62
Lampiran 5. Perbandingan berbagai model kurva menggunakan SPSS untuk mendapatkan persamaan regresi.....	63
Lampiran 6. Uji nilai median.....	89